





دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی اردبیل

دانشکده پزشکی

پایان نامه جهت دریافت درجه دکترای حرفه ای در رشته ی پزشکی

عنوان:

بررسی ارتباط میان مارکر VNTR الیل IL-1RN و عفونت H.Pylori در

بیماران مبتلا به سرطان معده در استان اردبیل

استاد راهنما: دکتر سید سعید حسینی اصل

استاد مشاور: دکتر هادی پیری

نگارش: نیما فرهمند بیگی

بهار ۱۳۹۰

شماره پایان نامه:

۰۳۶۸

و انسان کارآموز رنج استادش است.

(تقدیم به استادان گرانقدرم)

جناب آقای دکتر سیدسعید حسینی اصل

جناب آقای دکتر هادی پیری

که محبت هایشان فراتر از مرز اندازه ها

راهنماییشان فراتر از مرز ارزش ها

و مقامشان فراتر از مرز بیان هاست)

تقدیم به :

پدر فداکار و زحمتکش

که تمامی طلبش از زندگی در دو کلمه خلاصه شد:

آینده فرزندانش

تقدیم به:

مادر مهربان و دلسوزم

که دستان پرمهرش سبز بودن و سپید زیستن را به من آموخت.

تقدیم به:

همسر عزیزم، دکتر الهام نیاستی که زحمات فراوانی در تمامی

مراحل این

پایان نامه کشید و مایه دلگرمی من بود

بررسی ارتباط میان مارکر VNTR ال IL-1RN و عفونت H.Pylori در بیماران مبتلا به سرطان معده در استان اردبیل

چکیده

مقدمه: سرطان معده بعنوان دومین عامل مرگ ناشی از سرطان پس از سرطان ریه دارای شیوع جغرافیایی بسیار متنوعی است که در سطح استان اردبیل بطور چشمگیری شیوع بالایی دارد. بررسی عوامل ژنتیکی دخیل در کسب استعداد ابتلا به سرطان دارای اهمیت بالایی می باشد.

مواد و روش ها: ۱۰۰ فرد مبتلا به سرطان معده و ۱۰۰ فرد فاقد سرطان معده به عنوان گروه کنترل جهت انجام تحقیق انتخاب گردیدند و پس از جدا سازی و استخراج DNA از خون محیطی ایشان، توسط روش PCR به بررسی پلی مورفیزم طولی قطعه مورد نظر از ژن IL-1RN و با روش ELISA به بررسی وجود عفونت هلیکوباکتریلوری پرداختیم.

نتایج: ابتلای به هلیکوباکتریلوری در میان ۹۳٪ از بیماران و ۸۹٪ از گروه شاهد مشاهده گردید. پلی مورفیزم ژن IL-1RN در مورد افراد LL، SS، LS بترتیب در گروه بیماران ۴۵٪، ۱۳٪ و ۴۲٪ و در گروه شاهد ۵۱٪، ۶٪ و ۴۳٪ مشاهده شد. اختلاف معنی داری میان گروه بیماران و شاهد بدست نیامد.

نتیجه گیری: علیرغم یافت شدن پلی مورفیزم طولی در برخی مطالعات پیشین بعنوان فاکتور پیش آگهی، در این مطالعه این نتیجه بدست نیامد که این مسأله به تفاوت های جمعیتی ناشی از تفاوت عوامل محیطی ارتباط مستقیم دارد. بررسی استعدادهای ژنتیکی ابتلا به سرطان بسیار حایز اهمیت بوده و در تشخیص زودرس و پیش آگهی بیماری نقش مهمی ایفا می کند.

کلمات کلیدی: سرطان معده، پلی مورفیزم، هلیکوباکتریلوری، IL-1RN

فهرست مطالب

عنوان	صفحه
فصل اول: طرح تحقیق	
۱-۱- مقدمه.....	۲
۱-۲- بیان مسئله.....	۳
۱-۳- تعریف واژه‌های کلیدی.....	۵
۱-۴- اهداف.....	۵
۱-۴-۱- هدف کلی.....	۵
۱-۴-۲- اهداف فرعی.....	۵
۱-۴-۳- اهداف کاربردی.....	۶
۱-۵- فرضیات یا سؤالات تحقیق.....	۶
فصل دوم: بررسی متون	
۲-۱- مبانی نظری.....	۸
۲-۱-۱- آدنوکارسینوم معده.....	۸
۲-۱-۱-۱- میزان بروز و اپیدمیولوژی.....	۸

۹.....۲-۱-۲- پاتولوژی

۱۰.....۲-۱-۳- اتیولوژی

۱۰.....۲-۱-۳-۱- آدنوکارسینوم نوع روده ای

۱۲.....۲-۱-۳-۲- آدنوکارسینوم منتشر

۱۳.....۲-۱-۴- مورفولوژی

۱۵.....۲-۱-۵- تظاهرات بالینی

۱۶.....۲-۱-۶- تشخیص

۱۸.....۲-۱-۷- درمان

۱۹.....۲-۲- مطالعات جهان

۲۰.....۲-۳- مطالعات ایران

فصل سوم: مواد و روشها

۲۲.....۳-۱- نوع مطالعه

۲۲.....۳-۲- جامعه آماری و حجم نمونه

۲۲.....۳-۲-۱- جامعه آماری

۲۲.....۳-۲-۲- حجم نمونه

- ۳-۳- روش گردآوری اطلاعات..... ۲۲
- ۳-۳-۱- مواد لازم..... ۲۲
- ۳-۳-۱-۱- مواد لازم برای استخراج DNA..... ۲۲
- ۳-۳-۱-۲- مواد لازم جهت واکنش PCR..... ۲۳
- ۳-۳-۱-۲-۱- مخلوط واکنش PCR..... ۲۳
- ۳-۳-۱-۲-۲- مواد لازم جهت الکتروفورز DNA (آگارز)..... ۲۵
- ۳-۳-۲- وسایل مورد نیاز..... ۲۶
- ۳-۳-۲-۱- وسایل مورد نیاز جهت نگهداری و جمع‌آوری نمونه‌ها..... ۲۶
- ۳-۳-۲-۲- وسایل لازم جهت انجام واکنش PCR..... ۲۶
- ۳-۳-۲-۳- وسایل لازم جهت تهیه ژل الکتروفورز آگارز..... ۲۶
- ۳-۳-۳- دستگاه‌های مورد استفاده ۲۷
- ۳-۳-۴- روش کار..... ۲۷
- ۳-۳-۴-۱- نمونه گیری..... ۲۷
- ۳-۳-۴-۲- استخراج DNA از خون ۲۷
- ۳-۳-۴-۳- واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) ۲۹

۳۰..... ۴-۳-۳- الکتروفورز محصول PCR بر روی ژل آگارز

۳۱..... ۵-۳-۳- بررسی عفونت H.Pylori

۳۱..... ۶-۳-۳- روش بررسی عفونت H.Pylori با استفاده از کیت Diaplus

۳۲..... ۵-۳-۳- ملاحظات اخلاقی

۳۲..... ۶-۳-۳- روش تجزیه و تحلیل داده ها

فصل چهارم: نتایج

۳۴..... ارائه ی نتایج

فصل پنجم: بحث و نتیجه گیری

۴۳..... ۱-۵- بحث و نتیجه گیری

۴۶..... ۲-۵- محدودیتها

۴۶..... ۳-۵- پیشنهادات

۴۷..... منابع

۴۹..... چکیده انگلیسی

فهرست جداول

عنوان	صفحه
جدول ۱-۲ فاکتورهای خطر ساز کارسینوم معده	۱۱
جدول ۲-۲ سیستم طبقه بندی برای کارسینوم معده	۱۷
جدول ۱-۳ توالی الیگونوکلو تیدهای مورد استفاده در بررسیهای PCR	۲۳
جدول ۲-۳ کدگذاری الی های IL-RN پس از انجام PCR	۲۴
جدول ۳-۳ شرایط دمایی جهت تکثیر ژن	۲۴
جدول ۱-۴ بررسی ارتباط میان ژنوتیپ IL-RN و نوع آدنوکارسینوما	۳۸
جدول ۲-۴ ارتباط میان ژنوتیپ IL-RN در گروه بیمار و شاهد	۳۹

فهرست نمودارها

عنوان	صفحه
شکل ۱- ۴ توزیع گروه سنی در بیماران شرکت کننده	۳۵.....
شکل ۲- ۴ توزیع جنسی بیماران شرکت کننده	۳۵.....
شکل ۳- ۴ فراوانی انواع آدنوکارسینومای معده در بیماران مبتلا	۳۶.....
شکل ۴- ۴ توزیع محل تومور در بیماران شرکت کننده	۳۶.....
شکل ۵- ۴ توزیع جنسی گروه کنترل شرکت کننده	۳۷.....
شکل ۶- ۴ توزیع فراوانی ژنوتیپ IL-RN در میان گروه بیماران	۳۷.....
شکل ۷- ۴ توزیع فراوانی ژنوتیپ IL-RN در میان گروه کنترل	۳۸.....
شکل ۸- ۴ نتایج فراوانی عفونت H.Pylori در بیماران و گروه شاهد	۴۰.....
شکل ۹- ۴ نمونه های الکتروفورز شده از محصول نهایی PCR ژن IL-1RN	۴۱.....

فهرست علایم اختصاری

PCR: Polymerase Chain Reaction

DNA: Deoxyribonucleic Acid

ELISA: Enzyme-linked Immunosorbent Assay

VNTR: Variable Number of Tandem Repeats.

H.Pylori: Helicobacter Pylori

IL: Interleukin

mRNA: messenger Ribonucleic Acid

فصل اول

طرح تحقیق

۱-۱- مقدمه

سرطان معده دومین علت مرگ ناشی از سرطان در دنیاست که شیوع جغرافیایی بسیار متفاوتی دارد(۱).

به دلایل ناشناخته، میزان مرگ و میر ناشی از سرطان در ۷۵ سال گذشته به طور چشمگیری کاهش پیدا کرده است. با این حال، ۲۱۲۶۰ مورد جدید از سرطان معده در سال ۲۰۰۷ در ایالات متحده تشخیص داده شده و ۱۱۲۱۰ آمریکایی به علت سرطان معده جان خود را از دست داده اند(۲).

بر اساس مطالعات انجام شده در کشورمان، توسط وزارت بهداشت و درمان، مشخص شده که آدنوکارسینوم معده، کشنده ترین سرطان در ایران است که تفاوت زیادی در میزان مرگ و میر در استان های مختلف وجود دارد. بر اساس این مطالعات استان اردبیل بالاترین میزان شیوع سرطان را در ایران داراست(۳).

۲-۱- بیان مسئله

با وجودی که در بسیاری از کشورهای جهان، روند کاهشی در شیوع کلی و مرگ و میر ناشی از سرطان معده وجود دارد، با این حال سرطان معده به عنوان یکی از عوامل کشنده ی اصلی در میان سرطان ها باقی مانده است، میزان بقای ۵ ساله ی در حدود ۲۰٪، دلیلی برای این مطلب است. این سرطان مسئول ۲٪ تمامی مرگ های ناشی از سرطان در ایالات متحده است (۱).

به دلایل نامعلوم، شیوع آمار مرگ و میر ناشی از سرطان معده در ایالات متحده کاهش پیدا کرده است، به طوریکه در مردان از ۲۸ نفر در هر صد هزار نفر به ۵/۸ در هر صد هزار نفر رسیده است و این آمار در زنان از ۲۷ نفر در هر صد هزار نفر به ۲/۸ نفر در هر صد هزار نفر کاهش پیدا کرده است. با این حال ۲۱۲۶۰ مورد جدید از سرطان معده در سال ۲۰۰۷ تشخیص داده شده است و ۱۱۲۱۰ آمریکایی در اثر این بیماری جان خود را از دست داده اند (۲).

بر اساس مطالعات انجام شده در ایران، در استان اردبیل سرطان معده شایعترین سرطان در مردان (۴۹/۷٪) همچنین شایعترین سرطان در زنان (۲۵/۴٪) بوده است (۵).

شواهد فراوانی به این موضوع دلالت می کند که سرطان معده نتیجه ی تغییرات ژنتیکی و اپی ژنیک انکوژن ها، ژنهای سرکوب کننده ی تومور، ژن های ترمیم کننده ی DNA، تنظیم کننده های چرخه سلولی و مولکول های چسبندگی سلولی می باشد (۴).

سایتوکاینهای **pro-inflammatory** در موکوس معده توسط سلولهایی که با عفونت مزمن **H.pylori** فعال گردیده اند، تولید می گردد. جهش های موجود در ژنهای سایتوکاینها با تفاوت های فردی موجود در سطح **mRNA** سایتوکاین موکوسی در ارتباط بوده و منجر به تفاوت هایی در التهاب موکوسی معده، ممانعت اسیدی و بیماری های دیگر مرتبط با سیستم گوارشی در پاسخ به عفونت **H.pylori** می گردند.